

Utjecaj tretmana eteričnim uljem mirte na stabilnost i senzorska svojstva minimalno procesirane jabuke

Berišić, Lorena

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:642987>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Lorena Berišić
58219541**

Utjecaj tretmana eteričnim uljem mirte na stabilnost i senzorska svojstva minimalno procesirane jabuke

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta: Ovaj rad izrađen je u okviru projekta „Bioaktivne molekule ljekovitog bilja kao prirodni antioksidansi, mikrobiocidi i konzervansi“ (2020 – 2022) financiranog sredstvima Europskog fonda za regionalni razvoj (KK.01.2.1.02.)

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj tretmana eteričnim uljem mirte na stabilnost i senzorska svojstva minimalno procesirane jabuke

Lorena Berišić, 58219541

Sažetak: Minimalno procesirana jabuka danas je vrlo aktualan prehrambeni proizvod zbog jednostavnosti konzumacije i opće koristi koju pruža ljudskom organizmu, no posmeđivanje i mikrobiološko kvarenje predstavljaju neizostavni problem minimalnog procesiranja. Cilj je ovog istraživanja ispitati utjecaj različitih koncentracija eteričnog ulja mirte (25, 75, 125 i 175 mg/L) na trajnost minimalno procesirane jabuke (MPJ) Cripps Pink kroz mikrobiološku i senzorsku analizu, te mjerenje topljive suhe tvari, pH i boje. Rezultati istraživanja pokazuju da eterično ulje mirte nema uočljiv utjecaj na broj aerobnih mezofilnih bakterija koji je nadalje tijekom skladištenja u svim uzorcima ostao u granicama dopuštenih vrijednosti. Vrijednosti topljive suhe tvari su bile u blagom padu, a pH u blagom porastu tijekom skladištenja. Što se boje jabuke tiče, utjecaj eteričnog ulja mirte nije bio značajnije izražen, iako se na temelju dobivenih rezultata može zaključiti kako su koncentracije od 75 mg/L i više učinkovitije suzbijale promjene boje. Preporučuje se koncentracija od 75 mg/L na temelju rezultata mikrobiološke i senzorske analize te mjerenja topljive suhe tvari, pH i boje.

Ključne riječi: minimalno procesirana jabuka, eterično ulje mirte, skladištenje, senzorska analiza, posmeđivanje

Rad sadrži: 31 stranica, 13 slika, 1 tablica, 37 literaturnih navoda,

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Pomoć pri izradi: dr.sc. Ana Dobrinčić

Datum obrane: 14. rujna 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits and Vegetables

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

The effect of treatment with myrtle essential oil on the stability and sensory properties of minimally processed apples

Lorena Berišić, 58219541

Abstract: A minimally processed apple is a very popular product today because of its ease of consumption and nutritional value, but browning and microbiological spoilage are an inevitable problem of minimal processing. The aim of this research is to investigate the impact of different concentrations of myrtle essential oil (25, 75, 125, and 175 mg/L) on the shelf life of minimally processed Cripps Pink apples through microbiological and sensory analysis, as well as measurements of soluble solids, pH, and color. Obtained results show that myrtle essential oil has no noticeable effect on the number of aerobic mesophilic bacteria, which remained within acceptable limits in all samples during storage. Soluble solids values showed a slight decrease, while pH showed a slight increase during storage. As for the color of the apples, the influence of myrtle essential oil did not exhibit remarkable effects. However, based on the obtained results, it can be concluded that concentrations of 75 mg/L and higher were the most effective in suppressing color changes. A concentration of 75 mg/L is recommended based on microbiological and sensory analysis results, as well as measurements of soluble solids, pH and color.

Keywords: fresh-cut apple, myrtle essential oil, storage, sensory analysis, browning

Thesis contains: 31 pages, 13 figures, 1 table, 37 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the library of the University of Zagreb Faculty of Food and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD, Branka Levaj, Full Professor

Technical support and assistance: dr.sc. Ana Dobrinčić

Thesis defended: September 14, 2023

SADRŽAJ

1	UVOD.....	1
2	TEORIJSKI DIO	2
2.1	Jabuka	2
2.1.1	Kemijski sastav jabuke	2
2.1.2	Tržište jabuka u Hrvatskoj.....	3
2.2	Minimalno procesirano voće	4
2.2.1	Minimalno procesirana jabuka	4
2.3	Mirta.....	6
2.3.1	Eterično ulje mirte	6
2.3.2	Eterična ulja i njihova primjena u minimalnom procesiranju.....	7
3	EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1	Materijali	9
3.1.1	Sirovine	9
3.2	Metode rada.....	9
3.2.1	Aparatura i pribor	9
3.2.2	Priprema minimalno procesirane jabuke	9
3.2.3	Mikrobiološka analiza	10
3.2.4	Mjerenje boje CIELAB metodom	10
3.2.5	Mjerenje pH vrijednosti.....	11
3.2.6	Mjerenje topljive suhe tvari.....	12
3.2.7	Metoda određivanja senzorskih svojstava	12
4	REZULTATI I RASPRAVA	13
4.1	Mikrobiološka ispravnost.....	13
4.2	Parametri boje određeni CIELAB metodom.....	14
4.3	Rezultati mjerenja pH i topljive suhe tvari.....	17
4.4	Senzorska analiza	20
5	ZAKLJUČCI.....	25
6	LITERATURA	27

1 UVOD

Danas je u svijetu sve raširenija potražnja za minimalno procesiranim voćem i povrćem zbog ubrzanog načina života koji zahtijeva brzu pripremu jela i jednostavnost konzumacije. Minimalno procesirano voće i povrće predstavlja svježe voće i povrće koje je prošlo minimalan tretman u svrhu ostvarenja jednostavne konzumacije pri čemu je potrebno omogućiti što manje promjena kvalitete i svježine tijekom skladištenja, i svakako da ostane zdravstveno ispravan. Sirovina se podvrgava jednostavnim operacijama od kojih su najčešće pranje, guljenje, rezanje i tretiranje sredstvima protiv posmeđivanja bez upotrebe topline te pakiranje i skladištenje. Upravo termički tretman koji izostaje u obradi minimalno procesiranog voća i povrća razlikuje konvencionalno obrađeno voće i povrće od minimalno procesiranog koje je zbog toga podložnije mikrobiološkom i enzimskom kvarenju. Ovakva kvarenja uzrok su smanjenja kvalitete proizvoda zbog negativnog utjecaja na teksturu, boju, aromu i zdravstvenu ispravnost te se iz tog razloga provode istraživanja u svrhu očuvanja kvalitete minimalno procesiranog voća i povrća. Jabuka kao voće koje je prisutno na tržištu tijekom cijele godine, sve se više primjenjuje prilikom provođenja ispitivanja i proučavanja minimalnog procesiranja. Jedan od najvećih problema minimalnog procesiranja je posmeđivanje koje je posljedica reakcije kisika s fenolnim spojevima prilikom čega uz djelovanje enzima nastaju melanoidi– smeđi pigmenti, a sve je to potaknuto mehaničkim oštećenjem tkiva voća i povrća. Najefikasnije se ovo regulira primenom kemijskih sredstava, ali kako se danas svijet sve više okreće prirodnom i ljudi više potražuju proizvode koji nisu kemijski tretirani, sve se više istražuje učinkovitost prirodnih tvari u svrhu sprječavanja posmeđivanja i smanjenja mikrobiološkog kvarenja tijekom skladištenja. Neke od takvih alternativnih metoda uključuju ultrazvučno rezanje, UV zračenje, ali i korištenje eteričnih ulja biljaka koja imaju antimikrobna i antioksidacijska svojstva.

Upravo je i cilj ovoga rada utvrditi djelotvornost eteričnog ulja mirte korištenog u koncentracijama od 25, 75, 125 i 175 mg/L na povećanje stabilnosti i održivosti MPJ sorte Cripps Pink tijekom skladištenja u vakuumu u ukupnom trajanju od 10 dana pri temperaturi od 6-8 °C. Također je pripremljen i kontrolni uzorak koji nije tretiran eteričnim uljem u svrhu procjene same učinkovitosti eteričnog ulja. Parametri koji su praćeni tijekom eksperimenta određivani su 0., 1., 3., 7. i 10. dan, a uključuju pH vrijednost, boju, topljivu suhu tvar, senzorska svojstva i broj mikroorganizama.

2 TEORIJSKI DIO

2.1 Jabuka

Jabuka poznata pod latinskim nazivom *Malus domestica*, u svijetu je općeprihvaćena kao najrasprostranjenije voće, pripada porodici Rosaceae i rodu *Malus*, a osim toga naziva se i kraljicom voća. Jabuka potječe iz srednje Azije odakle se proširila Europom u vrijeme Aleksandra Velikog (356- 323 p.n.e) i pripada drvenastim voćnim vrstama. Jabuka je listopadno drvo koje može doseći visinu od 1,8 do 4,6 metara kod udomaćenih sorti, dok divlje sorte mogu narasti do 12 metara. Stablo se razgranjuje na određenoj visini iznad tla, te razlikujemo deblo i krošnju. Jabuka je višegodišnja biljka koja u intenzivnim nasadima može kontinuirano davati odgovarajuću količinu plodova tijekom 25 - 30 godina. Nakon sadnje, jabuka ulazi u punu rodnost u petoj godini. Cvjeta u proljeće i pritom nastaju bijelo-ružičasti cvjetovi veličine 3- 4 cm. Sazrijevanje plodova događa se u kasno ljeto ili ranu jesen, a razlikuju se po veličini, obliku, boji, okusu i samom vremenu dozrijevanja. Budući da je jabuka vrlo prilagodljiva kad je riječ o ekološkim uvjetima u kojima se uzgaja, vrlo je rasprostranjena iako najvećem broju sorti odgovara područje kontinentalne klime (Lučić, 2014).

2.1.1 Kemijski sastav jabuke

Kemijski sastav i kvaliteta plodova jabuke ovise o različitim faktorima. Proučavanje kemijskog sastava i kvalitete plodova zahtijeva složen pristup istraživanja, što je i razumljivo jer plod jabuke sadrži više od 50 organskih i anorganskih spojeva. Glavni sastojci su voda i ugljikohidrati poput šećera, škroba, pektina, celuloze, hemiceluloze, organskih kiselina i tanina. U manjim količinama prisutni su proteini, lipidi, vitamini, minerali, fenolni spojevi i aromatski spojevi. Pri općoj procjeni kvalitete plodova često se fokusira na ukupnu količinu šećera i kiselina te na harmoničan omjer između njih. Kvaliteta plodova ovisi prije svega o sortnim karakteristikama, ali je također pod utjecajem različitih čimbenika, prije svega ekoloških uvjeta proizvodnog područja, uključujući klimatske uvjete i nadmorsku visinu, ali i plodnost tla, gnojidbu, navodnjavanje, podloge, uzgojne oblike, rezidbu, prirodu plodova, itd. Kvaliteta ploda također ovisi o količini ukupnih šećera, količini ukupnih kiselina, veličini ploda, boji ploda, teksturi i boji mesa, aromi, mirisu, sočnosti, prisutnosti bioaktivnih tvari poput fenolnih spojeva i drugim sastojcima. Voćnjaci smješteni na povišenim brežuljkastim terenima omogućavaju bolju kvalitetu plodova s većom količinom ukupnih šećera i ukupnih kiselina. To je posljedica dobre

zračne drenaže i strujanja hladnijeg zraka nizbrdo, što rezultira povoljnijim uvjetima za voće. Na takvim položajima, posebno tijekom noći, dolazi do izraženog strujanja hladnijeg zraka. Međutim, i na ravnim terenima i na brežuljcima, uz dobru osvjetljenost i toplinu, fotosinteza i nakupljanje šećera odvijaju se gotovo jednako tijekom dana. U oba slučaja, tijekom dana se također troši otprilike ista količina šećera na disanje u voćnjaku. No, tijekom noći na povišenim brežuljkastim terenima, gdje je niža temperatura zbog strujanja hladnijeg zraka prema nizini, dolazi do manjeg disanja i manje potrošnje šećera. Stoga plodovi s povišenih položaja imaju više ukupnih šećera i ukupnih kiselina u usporedbi s plodovima s nizinskih položaja. Plodovi iste sorte uzgojeni na nizinskom ili ravninskom području sadrže do 1,5% manje šećera u usporedbi s plodovima uzgojenima na povišenim ili brežuljkastim područjima. Također se ističe da plodovi većine sorti s povišenih položaja postižu bolju boju (Miljković, 2022).

2.1.2 Tržište jabuka u Hrvatskoj

Vremenske prilike imaju velik utjecaj na konstantnu fluktuaciju ponude domaće jabuke. To je rezultat nedovoljne zaštite i opremljenosti hrvatskih voćnjaka kako bi se smanjio i spriječio takav rizik. Najčešće sorte jabuka koje se nalaze na domaćem tržištu su Idared (oko 68%), Jonagold i klonovi (oko 15%), Golden Delicious (oko 10%), te ostale sorte poput Gale, Granny Smitha, Elastar, Gloster i druge, koje su manje zastupljene, odnosno čine manje od 10% ponude. Međutim, ovakav izbor sorti zaostaje za svjetskim i europskim trendovima, gdje su najpopularnije Golden Delicious i Gala. U Hrvatskoj se godišnje prosječno konzumira oko 14,1 kg jabuka po stanovniku, pri čemu oko 80% te količine otpada na tržišnu potrošnju. Najveća potrošnja jabuka događa se u jesenskim mjesecima, od listopada do prosinca, te u proljetnim mjesecima, od ožujka do svibnja. Osim toga, na potrošnju jabuka utječe i drugo sezonsko voće poput jagoda, bresaka, mandarina, trešanja i slično, kao i mogućnost zamjene jabuke s bananom i narančom. Domaća proizvodnja jabuka nije dovoljna za zadovoljenje vlastitog tržišta, pa se nedostatak nadoknađuje uvozom. Problem nije samo nedovoljna količina, već i nedostatak kvalitete domaćih jabuka za vlastito tržište. Da bi se riješila oba problema, jabuke se uvoze iz Poljske, Italije, Austrije i Slovenije. Najveći uvoz jabuka događa se od 21. veljače do 14. rujna. U tom razdoblju ponuda domaćih jabuka je smanjena zbog ograničenih mogućnosti skladištenja, sortiranja i pakiranja (Cerjak i sur., 2011).

2.2 Minimalno procesirano voće

Ubrzani način života rezultirao je nedostatkom vremena, što se odrazilo i na pripremu obroka. Postoji sve veća naklonost potrošača prema zdravoj, brznoj i lako pripremljivoj hrani. Prehrambena industrija, kako bi zadovoljila zahtjeve potrošača, neprestano razvija širok spektar gotove, svježe narezane i ohlađene hrane s produljenim rokom trajanja. Tehnike čuvanja poput hlađenja, posebnog pakiranja koje može uključivati primjenu modificirane atmosfere i vakuuma te upotreba antimikrobnih sredstava obično se primjenjuju kako bi se očuvala svježina proizvoda. Svježa hrana koja je spremna za konzumaciju, s minimalnim promjenama, bez jakih konzervansa i bez termičkog tretiranja naziva se minimalno procesirana hrana. Pakira se i prodaje u stanju spremnom za izravnu konzumaciju radi jednostavnosti i praktičnosti. Minimalno procesirana hrana, a posebice voće zbog svojih brojnih nutritivnih vrijednosti, odgovor je na nove tržišne trendove, odnosno rastuću potražnju za učinkovitim tehnikama konzerviranja koje ne zahtijevaju korištenje kemijskih konzervansa. Posebno zanimanje potrošača pobudila je grana prehrambene industrije koja se bavi minimalno procesiranim voćem jer se ono smatra zdravijim od većine konvencionalno prerađenog voća. Minimalno procesirano voće uključuje svježe voće koje je minimalno izmijenjeno te je najčešće narezano, oguljeno, usitnjeno, oprano, zapakirano i spremno za uporabu (Santos i sur., 2022).

Međutim, prilikom prerade minimalno procesiranog voća, postoji značajan izazov vezan uz očuvanje kvalitete tih proizvoda tijekom dužeg razdoblja jer ovakvi proizvodi imaju kraći rok trajanja od svježeg voća. Minimalno procesirano voće čuva se na temperaturama od 4-8 °C u trajanju od najčešće 4-7 dana. Oštećenje tkiva tijekom rezanja i guljenja, mikrobiološka kontaminacija na površini i nepovoljni uvjeti obrade mogu dovesti do promjena u boji, teksturi, svježem okusu i nutritivnoj vrijednosti sirovine, narušavajući njihovu kvalitetu (Levaj i sur., 2018).

2.2.1 Minimalno procesirana jabuka

Jabuka je izuzetno pogodna sirovina za minimalno procesiranje zbog nekoliko karakteristika. Naime, vrlo je popularna među potrošačima i ima pristupačnu cijenu te je dostupna tijekom cijele godine (Lata i sur., 2009). Međutim, kao i ostali minimalno procesirani proizvodi, jabuka je podložna promjenama boje, teksture, senzorskih svojstava i mikrobiološkom kvarenju. Priprema minimalno procesirane jabuke zahtijeva posebne postupke i pažljivo rukovanje kako

bi se očuvala kvaliteta i zadovoljio traženi rok trajanja proizvoda. Najprije se obavlja berba i to ovisno o tipu sorte. Rane sorte beru se par dana prije konzumne zrelosti, jesenske sorte od 7- 14 dana prije konzumne zrelosti, a zimske sorte u vrijeme fiziološke zrelosti. Osim zbog određivanja vremena berbe, važno je izabrati sortu jabuke koja je pogodna za minimalno procesiranje u vidu ostvarivanja najboljih rezultata. Manja osjetljivost na posmeđivanje u odnosu na većinu drugih sorti (Putnik i sur., 2017) te hrskava tekstura sorte Cripps Pink, koja se dobro održava čak i nakon minimalne obrade jabuke, čini je pogodnom za rezanje na tanke ploške ili kockice, bez gubitka oblika i strukture. Najvažnije je prilikom berbe uzeti u obzir da je jabuka dovoljno zrela te da ima dobar okus, ali ne previše zrela da postane mekana ili ubrzano posmeđuje nakon rezanja. Nakon adekvatno provedene berbe, jabuke se primaju i skladište ako nisu spremne za daljnju obradu. Skladištenje se obavlja u hladnjačama pri temperaturama nižim od 4 °C. Pranje jabuka predstavlja jedan od najvažnijih koraka prilikom obrade jer se pranjem s jabuka uklanjaju površinske nečistoće i mikroorganizmi. Nakon površinskog pranja jabuka slijedi rezanje na komade upotrebom što oštrijih noževa ili rezača kako bi se maksimalno umanjilo mehaničko oštećenje tkiva jabuke, a potom ponovno uranjanje u vodu s dodatkom sredstava protiv posmeđivanja. U tu svrhu mogu se koristiti različita sredstva poput EDTA, askorbinske kiseline i limunske kiseline, a samo djelovanje temelji se na inaktivaciji enzima. Nakon tretiranja jabuka, iste se cijede i pakiraju u vrećice pod vakuumom ili uz upuhivanje modificirane atmosfere. Uspješnost pakiranja ovisi o upotrebnoj ambalaži (materijalu vrećice) i o primjeni niskih temperatura prilikom skladištenja minimalno procesirane jabuke (Cantwell i Suslow, 2002). Preporučena temperatura skladištenja je 4- 6 °C, a uz to je važno osigurati čistoću skladišnog prostora (De Castro i sur., 2008).



Slika 1. Cripps Pink jabuka (anonymous) (Specialty Produce, n.d.)

2.3 Mirta

Mirta (*Myrtus communis* L.) je ljekovita biljka, tipičan predstavnik mediteranske flore, koja se širom svijeta koristi u tradicionalnoj medicini. Mirta, koja pripada porodici Myrtaceae, jednogodišnji je grm koji raste u nekoliko regija diljem svijeta. Njeno je lišće poznato zbog prisutnosti esencijalnih ulja, a njihov sastav određuje specifičnu aromu biljaka i okus začina (Aydin i Özcan, 2007). Iz ove biljke su izolirane mnoge komponente koje se smatraju glavnim biološki aktivnim sastojcima, poput α -pinena, 1,8-cineola i limonena (Tuberoso i sur., 2006). Zbog izrazito bogatog nutritivnog sastava, mirta pokazuje pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, poput antidijabetičkih, protuupalnih, protukancerogenih i antioksidacijskih. Bobice, listovi i plodovi ove biljke već stoljećima se intenzivno koriste kao narodni lijek. Tradicionalno se mirta koristi za liječenje raznih poremećaja kao što su proljev, hemoroidi, upale, plućne i kožne bolesti (De Peredo i sur., 2019).

Ova vrsta ima iznimno ugodan miris zahvaljujući visokom udjelu eteričnog ulja koje se nalazi u žlijezdama lišća, cvjetova i ploda. Cvjetovi su pojedinačni, bijele ili ružičaste boje, oblika zvijezde s pet latica i mnogo prašnika. Plod je bobica s mnogo sjemenki, sferičnog oblika i tamnocrvene do ljubičaste boje (Nassar i sur., 2011).

2.3.1 Eterično ulje mirte

Sastav eteričnog ulja mirte (slika 2.) i koncentracija prisutnih komponenata ovise o dijelovima biljke koji se koriste za pripremu ulja, fazi zrenja biljke te o primijenjenoj metodi ekstrakcije. Komponente eteričnog ulja mirte mogu se podijeliti u tri glavne kategorije: terpeni (monoterpenski i seskviterpenski spojevi), terpenoidi (oksidirani oblici monoterpena i seskviterpena) i fenilpropanoidi (Andrade i sur., 2011).

Mnoga istraživanja su dokazala *in vitro* antimikrobnu i antioksidacijsku učinkovitost ekstrakata i eteričnih ulja mirte (*Myrtus communis* L.), što je u skladu s trenutnim trendovima. Mirta se čini obećavajućom biljkom u pogledu alternativnih antimikrobnih sredstava protiv sve većeg broja patogenih mikroorganizama koji su otporni na konvencionalne antibiotike, kao i antioksidansa koji bi trebali zamijeniti sintetičke. Okolišni čimbenici imaju ključnu ulogu u kemijskom sastavu ulja mirte. Sastav i kvaliteta eteričnog ulja ovise o faktorima kao što su vrsta i doba rasta biljke, organ koji proizvodi ulje, okolišni uvjeti (klima, tlo, vegetacija) te metoda ekstrakcije ulja (Štefanac, 2018).

U brojnim studijama su opisana antimikrobna (antibakterijska, antifungalna i antivirusna) i antioksidacijska svojstva spojeva koje proizvodi *M. communis* L. Na primjer, komponente

eteričnih ulja mirte poput 1,8-cineola, linaloola, eugenola, α -terpineola i γ -terpinena pokazuju dobar baktericidni učinak protiv određenih gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Također, istraživanje Zanetti i sur. (2010) je pokazalo da pojedinačni spojevi mirte kao što su limonen (0,17–2%), 1,8-cineol (2–16%) i α -pinena (1–16%) imaju značajan učinak protiv sojeva *M. tuberculosis*. Ovi biološki učinci eteričnih ulja i ekstrakata mirte rezultat su aktivnosti različitih kemijskih spojeva.



Slika 2. Eterično ulje mirte (vlastita fotografija)

2.3.2 Eterična ulja i njihova primjena u minimalnom procesiranju

Eterično ulje se međunarodno definira kao proizvod dobiven iz biljke ili njenih dijelova putem vodene destilacije, parne destilacije, suhe destilacije ili odgovarajućeg mehaničkog postupka bez zagrijavanja. Ova ulja su aromatične tekućine, hlapljive prirode, s jakim mirisom, rijetko obojena, i obično manje guste od vode. Mogu se stvoriti u svim dijelovima biljke (cvjetovi, pupoljci, sjemenke, listovi, grančice, kora, bilje, drvo, plodovi i korijenje) i izdvojiti iz istih (Miguel, 2010).

Poznato je više od tri tisuće eteričnih ulja, od kojih je oko tristo komercijalno relevantno za proizvode poput parfema, kozmetike, čišćenja, hrane i farmaceutskih proizvoda (Kivrak, 2018). Potrošači sve više prepoznaju upotrebu prirodnih antibakterijskih spojeva kao obećavajuću alternativu kemijskim dezinficijensima, ne samo u kontekstu sigurnosti hrane, već

i kao općenitu alternativu kemijskim antibakterijskim sredstvima. Eterična ulja biljaka predstavljaju jedan od glavnih izvora antibakterijskih spojeva, od kojih su vrlo česti alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, fenoli i fenolni eteri te terpenski spojevi koji su najzastupljeniji. Iz navedenih razloga, danas su mnoga istraživanja usredotočena upravo na ispitivanje njihovog utjecaja na minimalno procesirano voće koje je podložno mikrobiološkom kvarenju. Budući da se eterična ulja smatraju sigurnima za konzumaciju (općenito priznati kao sigurni - GRAS), zabrinutosti u vezi s njihovom primjenom u minimalno procesiranim namirnicama su minimalne (Santos i sur., 2022).

Gutierrez i sur. (2009) istraživali su učinkovitost eteričnih ulja biljaka u kontroliranju mikroflora na salati i mrkvi te utjecaj na druge karakteristike. Utvrđeno je da su eterična ulja imala sličan učinak kao klor u dekontaminaciji, pri čemu je otopina s origanom pokazala najbolje rezultate u smanjenju mikroorganizama na mrkvama. Nisu se primijetile značajne razlike između tretmana s eteričnim uljima i klorom u sastavu plina, boje, teksture i aktivnosti vode. Prema senzorskom ocjenjivanju tretmani s eteričnim uljima prihvatljivi su za mrkvu tijekom 7 dana skladištenja, ali ne i za salatu.

Sharafi i sur. (2011) proveli su eksperiment s eteričnim uljima timijana i lavande na jabukama sorte Jonagold. Utvrđeno je da tretman eteričnim uljem timijana od 100 ppb povećava titracijsku kiselost, smanjuje ukupnu topljivu suhu tvar, omjer TSS/TA i postotak gubitka mase, dok je eterično ulje lavande imalo značajniji utjecaj samo na postotak gubitka mase. Tretmani koji su kombinirali oba ulja održali su čvrstoću ploda te su smanjili proizvodnju etilena i postotak gubitka mase.

Cilj istraživanja Xylia i sur. (2021) bio je procijeniti učinkovitost eteričnog ulja origana, askorbinske kiseline, kitozana i njihovih kombinacija na kvalitetu svježe rezanog lista salate tijekom šestodnevnog skladištenja pri 7 °C. Primjena kombinacije kitozana i askorbinske kiseline rezultirala je manje prihvatljivim proizvodom u pogledu vizualne kvalitete i arome, dok je primjena eteričnog ulja origana očuvala vizualnu kvalitetu i pružila ugodnu aromu. Primjena eteričnog ulja u kombinaciji s askorbinskom kiselinom povećala je udio fenola i antioksidansa u svježe rezanom listu salate 4. i 6. dana skladištenja. Eterično ulje origana i njegova kombinacija s askorbinskom kiselinom povećale su indeks oštećenja svježe rezanog lista salate, ali istovremeno su smanjile posmeđivanje te broj kvasaca i plijesni. Rezultati ovog istraživanja upućuju da bi kombinacija eteričnog ulja origana, askorbinske kiseline i kitozana mogla biti potencijalna alternativa za očuvanje minimalno procesiranog voća i povrća.

3 EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijali

3.1.1 Sirovine

Provedeno je istraživanje na jabuci sorte Cripps Pink, koja je minimalno procesirana i tretirana mješavinom destilirane vode i eteričnog ulja mirte.

3.2 Metode rada

3.2.1 Aparatura i pribor

- Plastične posude
- Nož za rezanje
- Daska za rezanje
- Papirnati ubrusi
- Menzura (1 L)
- Pipeta (1 mL)
- Kapaljka
- Epruvete Falcon
- Ultrazvučni homogenizator (IKA T25 digital ULTRA TURBAX)
- Laboratorijske čaše
- Vrećice za pakiranje u vakuum (dvoslojne poliamidne/polietilenske vrećice; rebrasti sloj PA 30 μm /PE 70 μm , glatki sloj PA 30 μm /PE 100 μm , Status d.o.o. Metlika, Slovenija)
- Uređaj za vakuumiranje (FFS015-X, FoodSaver, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- pH metar (SI Analytics, Lab 850)
- Refraktometar (Pocket, ATAGO 1940Tokyo)
- Kolorimetar (Konica-Minolta, Japan)

3.2.2 Priprema minimalno procesirane jabuke

Prije rezanja jabuke su oprane i osušene papirnatim ubrusima. Kako bi se maksimalno smanjilo mehaničko oštećenje tkiva, jabuke su narezane pomoću oštrog noža na 8 kriški i uz to je odstranjena sjemena loža. Otopina za tretiranje jabuka pripremljena je miješanjem određene

količine eteričnog ulja mirte u litri destilirane vode. Korištene su različite koncentracije otopine, uključujući kontrolnu skupinu bez ulja (0 mg/L), te koncentracije od 25 mg/L, 75 mg/L, 125 mg/L i 175 mg/L. Kriške jabuka su uronjene u otopinu u težinskom omjeru 1:1, posuda je zatvorena i sadržaj se miješao lagano 15 minuta. Nakon tretmana, jabuke su ocijedene i pakirane u vrećice. Vrećice su zatim vakuumirane pomoću uređaja za vakuumiranje. Uzorci su zatim skladišteni u hladnjaku na temperaturi od 6-8 °C. Analize su provedene nultog, prvog, trećeg, sedmog i desetog dana skladištenja, pri čemu su praćeni parametri uključivali pH, boju, topljivu suhu tvar, broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) i senzorska svojstva.

3.2.3 Mikrobiološka analiza

Svrha provedene mikrobiološke analize MPJ je procjena prisutnosti mikroorganizama, posebno AMB, kako bi se utvrdila mikrobiološka ispravnost i sigurnost proizvoda. Analiza pomaže u procjeni rizika od potencijalnih kontaminacija ili propadanja jabuka.

Mikrobiološka analiza provedena je prema normi HRN EN ISO 4833-1:2013 radi određivanja ukupnog broja AMB. Uzorak mase 10 grama je miješan s fiziološkom otopinom peptona ukupnog volumena 90 mL u sterilnoj vrećici te je zatim homogeniziran pomoću Stomacher uređaja tijekom jedne minute. Homogenizirani uzorak je zatim nanesen na agar ploču za brojanje mikroorganizama (Biolife, Milan, Italija), koja je inkubirana pri temperaturi od 30 ± 1 °C tijekom 72 ± 3 sata. Kolonije mikroorganizama su prebrojane pomoću brojača kolonija, a dobivene vrijednosti su izražene kao CFU (eng. Colony-Forming Units) koja predstavlja jedinicu korištenu za izražavanje broja živih mikroorganizama u uzorku i računa se prema sljedećoj formuli;

$$\text{CFU: } \frac{\text{broj poraslih kolonija}}{\text{volumen upotrijebljenog uzorka}} * \text{recipročna vrijednost decimalnog razrijeđenja}$$

3.2.4 Mjerenje boje CIELAB metodom

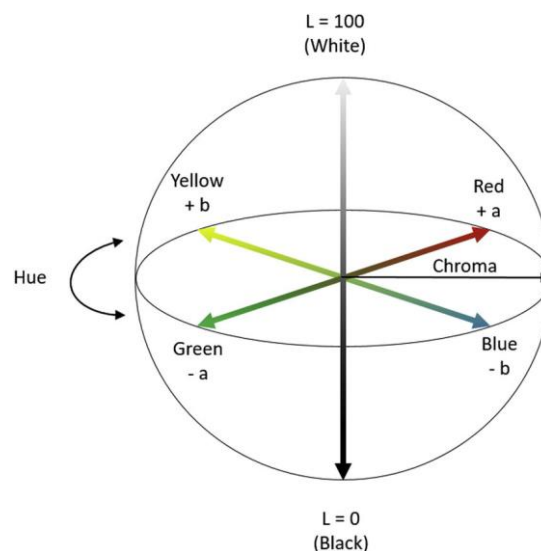
CIELAB metoda označavanja boje Međunarodne komisije za osvjetljenje (CIE - Commission Internationale de l'Eclairage) danas se sve češće koristi u različitim istraživanjima pa je stoga i u ovom istraživanju određivanje boje provedeno upravo CIELAB metodom koja se temelji se na trodimenzionalnom sustavu s koordinatama L^* , a^* i b^* . Koordinata L^* opisuje svjetlinu boje u rasponu od 0 (crno) do 100 (bijelo). Koordinate a^* i b^* određuju smjerove boja, pri čemu $+a^*$ označava crvenu, $-a^*$ zelenu, $+b^*$ žutu i $-b^*$ plavu boju. Centar sustava je

akromatičan, a intenzitet boje se povećava s udaljavanjem od centra. Pomoću izmjerenih vrijednosti a^* i b^* može se izračunati parametar C^* , koji opisuje zasićenost boje, te parametar H° , koji opisuje nijansu boje. Koristeći parametre L^* , a^* i b^* , moguće je izračunati ΔE^* , koji predstavlja ukupnu razliku u obojenosti. ΔE^* omogućuje kvantificiranje razlika u boji između dviju boja i koristi se za usporedbu boja ili evaluaciju preciznosti boje. Manje vrijednosti ΔE^* ukazuju na manje razlike u boji, dok veće vrijednosti označavaju veće razlike (McGuire, 1992). Postupku mjerenja parametara L^* , a^* i b^* prethodilo je kalibriranje kolorimetra najprije crnim valjkom, a potom bijelim standardom te je nakon toga slijedilo postavljanje kriški jabuka na otvor ploče i mjerenje. Izvršena su tri mjerenja za svaki uzorak tijekom svakog dana skladištenja u kojima je provedena analiza. Iz dobivenih parametara naknadno su izračunate vrijednosti parametara C^* , H° i ΔE^* .

$$C^* = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$$

$$H^\circ = \arctan(b/a)$$

$$\Delta E^* = [(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2]^{1/2}$$



Slika 3. CIELAB prostor boja (Ly i sur., 2020)

3.2.5 Mjerenje pH vrijednosti

Mjerenje pH vrijednosti je postupak koji se koristi za određivanje kiselosti ili alkalnosti otopine. Mjerenje je provedeno pomoću pH metra, elektroničkog uređaja koji mjeri električni potencijal između elektrode koja je potopljena u otopinu i referentne elektrode. Elektroda se najprije kalibrirala standardnim puferom poznate pH vrijednosti te je nakon svakog mjerenja ili prije prelaska u drugu otopinu provedeno ispiranje elektrode destiliranom vodom kako bi se

spriječila kontaminacija i očuvala točnost mjerenja. Korištenjem ultrazvučnog homogenizatora, nekoliko kriški jabuka je samljeveno, a u izdvojenom soku su izmjerene pH vrijednosti. Svaki uzorak je podvrgnut dvostrukom mjerenju.

3.2.6 Mjerenje topljive suhe tvari

Provedeno je mjerenje topljive suhe tvari pomoću refraktometra. Uređaj je najprije kalibriran dodavanjem nekoliko kapi destilirane vode pomoću kapaljke. Nakon toga, nekoliko kapljica soka jabuke izdvojenog tijekom mljevenja uzorka dodano je na optičku leću refraktometra. Za svaki uzorak provedeno je dvostruko mjerenje.

3.2.7 Metoda određivanja senzorskih svojstava

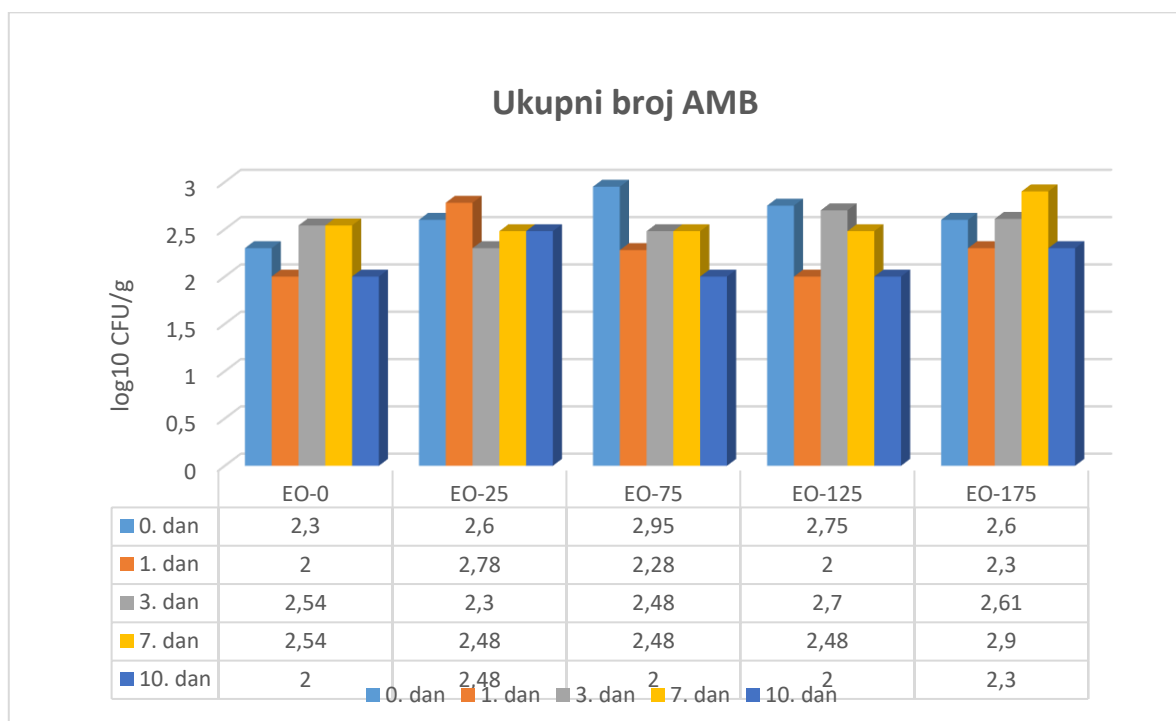
Senzorska procjena je znanstvena disciplina koja se bavi mjerenjem, analizom i interpretacijom onih karakteristika hrane i tvari koje su opažene putem osjetila vida, mirisa, okusa, dodira i sluha. Metode koje se koriste u procjeni senzorske kvalitete, a koje uključuju posebno obučene ocjenjivače, mogu se podijeliti na različite testove. To uključuje testove diferencijalne analize, testove sklonosti, sustave bodovanja i metode deskriptivne analize koja je korištena i u ovom istraživanju. Deskriptivna analiza je postupak koji se koristi za detaljan opis osjetnih svojstava uzorka, obično u redoslijedu njihovog pojavljivanja. Ova metoda pruža sveobuhvatan osjetilni opis koji uključuje svaki primijećeni osjet, poput vizualnog, gustatornog, olfaktornog, taktilnog i sl., prilikom ocjenjivanja proizvoda (Vahčić i sur., 2000).

Analiza senzorskih svojstava provedena je od strane 6 ženskih ocjenjivača, odnosno članova panel grupe različite životne dobi. Ocjenjivanje MPJ provedeno je 0., 1., 3., 7. i 10. dana skladištenja. Svojstva koja su određivana su boja, miris jabuke, miris mirte, strani mirisi, tekstura (tvrdoća, vlažnost, sočnost i hrskavost) te okus jabuke i mirte, slatkoća, kiselost, harmoničnost i strani okusi. Na samom kraju ocjenjena je i opća prihvaćenost uzorka. Korištena skala za ocjenjivanje svojstava bila je od 0 do 5, gdje je 0 označavalo neizraženo svojstvo, 1 jako slabo izraženo svojstvo, 2 slabo izraženo svojstvo, 3 srednje izraženo svojstvo, 4 izraženo svojstvo, dok je 5 označavalo jako izraženo svojstvo.

4 REZULTATI I RASPRAVA

4.1 Mikrobiološka ispravnost

Iako prehrambena industrija primarno koristi eterična ulja kao dodatke okusu, ona predstavljaju zanimljiv izvor prirodnih antimikrobnih sredstava za očuvanje hrane (Hyldgaard i sur, 2012).



Slika 4. Ukupni broj AMB minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja

Prema dobivenim rezultatima ukupnog broja AMB prikazanima na slici 4. ne može se odrediti jasan utjecaj eteričnog ulja mirte niti koncentracije istog na mikrobiološku sliku MPJ. Sve određene vrijednosti su vrlo slične i kreću se od 2 do 2,95 log CFU/g i tijekom skladištenja se smanjuju. Najniža prosječna vrijednost ukupnog broja AMB određena je za kontrolni uzorak. Najveće smanjenje od 0. do 10. dana skladištenja je zabilježeno za uzorke EO-75 i to za 0,95 log CFU/g. Iz navedenih informacija može se zaključiti da eterično ulje mirte ipak pokazuje određeni potencijal za upotrebu u svrhu očuvanja hrane zbog svojih antimikrobnih svojstava. U istraživanju Pizato i sur. (2022) određivan je utjecaj premaza od kitozana obogaćenog eteričnim uljem klinčića na kvalitetu minimalno obrađenih jagoda. Prema njihovim rezultatima došlo je do naglašenog rasta mikroorganizama tijekom skladištenja, a kontrolna skupina je pokazala veći rast od ostalih tretiranih uzoraka na kraju eksperimenta.

4.2 Parametri boje određeni CIELAB metodom

Tablica 1 prikazuje rezultate mjerenja boje uzoraka pomoću kolorimetra.

Tablica 1. Parametri boje minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja

Oznaka uzorka	Parametri boje				
	L^*	a^*	b^*	C^*	H°
EO-0 (0)	79,71±0,22	0,73±0,10	21,36±2,09	21,38±2,08	88,02±0,44
EO-0 (1)	78,03±1,17	1,20±0,42	23,02±1,49	23,05±1,50	87,03±0,89
EO-0 (3)	75,65±4,03	1,81±1,42	22,94±0,40	23,04±0,30	85,47±3,61
EO-0 (7)	78,79±2,17	0,8±0,31	23,07±1,91	23,08±1,91	88,11±0,71
EO-0 (10)	74,12±1,67	2,44±1,36	25,87±2,44	26,00±2,53	84,77±2,69
EO-25 (0)	74,02±1,96	2,83±0,56	24,03±1,98	24,19±2,02	83,31±0,92
EO-25 (1)	74,1±1,44	1,43±0,54	25,56±0,98	25,60±0,94	86,77±1,36
EO-25 (3)	78,57±1,46	0,65±0,37	23,39±1,06	23,40±1,07	88,43±0,83
EO-25 (7)	76,2±0,73	1,39±0,57	27,72±2,57	27,76±2,57	87,14±1,20
EO-25 (10)	77,11±1,69	1,14±0,24	24,48±2,85	24,51±2,86	87,35±0,28
EO-75 (0)	76,18±1,49	1,39±0,54	25,01±2,87	25,05±2,89	86,87±0,96
EO-75 (1)	76,91±0,41	0,77±0,35	22,36±0,94	22,37±0,95	88,07±0,77
EO-75 (3)	72,10±2,12	1,96±0,80	24,69±0,83	24,78±0,80	85,44±1,94
EO-75 (7)	77,22±0,82	1,05±0,32	24,26±1,84	24,28±1,84	87,51±0,80
EO-75 (10)	77,89±2,04	0,76±0,36	21,7±0,99	21,71±0,98	87,96±1,08
EO-125 (0)	74,63±1,28	0,9±0,34	24,73±2,04	24,74±2,04	87,88±0,87
EO-125 (1)	73,56±1,87	1,78±1,15	26,54±1,60	26,62±1,69	86,25±2,17
EO-125 (3)	78,32±0,54	0,48±0,38	24,74±1,93	24,74±1,94	88,93±0,86
EO-125 (7)	77,42±1,90	0,53±0,16	23,46±1,97	23,47±1,97	88,74±0,44
EO-125(10)	77,51±1,18	0,98±0,65	25,77±1,31	25,80±1,33	87,84±1,37
EO-175 (0)	75,08±1,90	1,48±0,30	22,39±1,61	22,43±1,64	86,37±0,74
EO-175 (1)	76,49±0,44	2,42±0,40	25,55±1,97	25,67±1,99	84,61±0,50
EO-175 (3)	76,58±0,70	1,87±0,45	25,37±1,40	25,44±1,43	85,80±0,78
EO-175 (7)	79,3±1,42	0,45±0,29	22,88±3,60	22,89±3,59	88,99±0,54
EO-175 (10)	78,2±1,12	0,32±0,35	22,34±0,93	22,34±0,93	89,21±0,87

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Brojevi u zagradi odnose se na dane skladištenja.

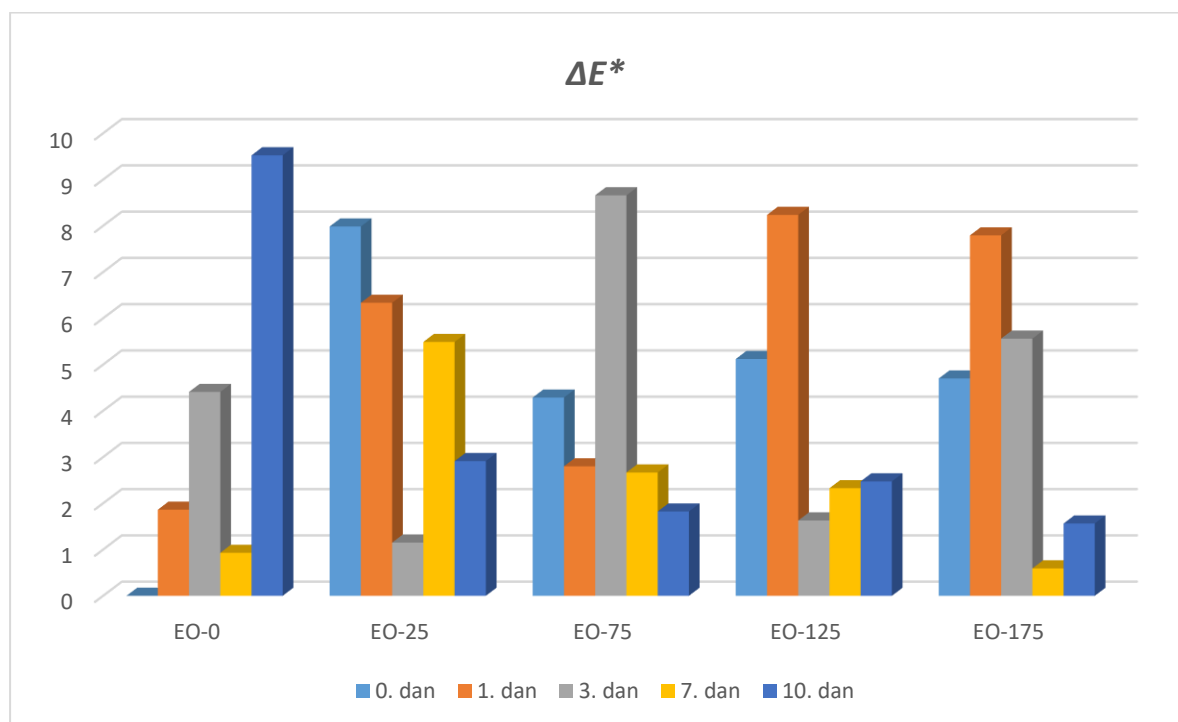
Iz izmjerenih podataka u tablici 1. vidljivo je da primjena eteričnog ulja mirte povoljno utječe na parametar L^* čije se vrijednosti kreću od najmanje koja iznosi 72,10 do najveće zabilježene vrijednosti koja iznosi 79,71. Na slici 5. vidi se da jedino u kontrolnom uzorku dolazi do smanjenja parametra L^* skladištenjem, dok svi ostali tretirani uzorci slijede trend povećanja vrijednosti L^* uz par iznimaka poput EO-75 (3) i EO-125 (1) gdje je došlo do malog pada vrijednosti L^* u odnosu na ostale dane skladištenja. Takav pad L^* može se pripisati činjenici da su tijekom svih dana analize korištene različite kriške jabuka koje također mogu pripadati različitim plodovima i nisu identičnog obojenja. Kad se uzmu u obzir prosječne vrijednosti L^* parametra, vidljivo je da porastom korištene koncentracije eteričnog ulja mirte rastu i L^* vrijednosti što znači da je uspješno provedeno sprječavanje posmeđivanja MPJ tretiranjem eteričnim uljem mirte.

Rezultati za parametar a^* nisu dosljedni. Sve vrijednosti su niske i pozitivne te variraju od 0,32 do 2,83 što ukazuje na prisutnost crvenih tonova. Budući da vrijednosti parametra a^* osciliraju te da se ne razlikuju znatnije između tretiranih i netretiranog uzorka tijekom skladištenja, nije moguće pouzdano utvrditi utjecaj eteričnog ulja mirte na taj parametar. Primjećuje se, međutim, da vrijednosti imaju tendenciju smanjenja tijekom skladištenja, osim za uzorak EO-0 čije vrijednosti rastu. Kao i kod parametra a^* , ni kod parametra b^* nisu uočene dosljedne vrijednosti u vidu stalnog rasta ili pada, niti je uočena značajnija razlika između vrijednosti tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka, stoga se ne može odrediti jasan utjecaj eteričnog ulja mirte na ovaj parametar. Sve vrijednosti parametra b^* su pozitivne što označava prisutnost žute komponente te se vrijednosti kreću od 21,36 do 27,72. Veće vrijednosti parametra C^* ukazuju na veću zasićenost boje, a budući da su vrijednosti zabilježene za parametar C^* u tablici 1. prilično niske i kreću se od 21,38 do 27,76, to ukazuje na nisku zasićenost. Parametar H° za većinu uzoraka iznosi oko 85° što znači da je prevladavajući ton žute boje.

U istraživanju Martinez-Romero i sur. (2005) bio je ispitivan utjecaj prirodnih aromatičnih eteričnih ulja u održavanju kvalitete „Crimson“ stolnog grožđa. Tijekom skladištenja primijećeno je smanjenje parametra L^* u odnosu na vrijednost istog nakon berbe. Međutim, smanjenje je bilo značajno manje kod plodova koji su bili tretirani timolom i mentolom u usporedbi s kontrolnim plodovima.

Usporedbom dobivenih rezultata s rezultatima istraživanja Brunović (2022), također provedenog na jabuci sorte Cripps Pink, vidljivo je da nema veće razlike u dobivenim vrijednostima parametara boje. Naime, u navedenom istraživanju L^* vrijednosti variraju od 73,89-78,11 što je gotovo jednako kao i u ovom istraživanju, vrijednosti parametra a^* i H° su

također u skladu, dok su vrijednosti b^* i C^* bile nešto niže od vrijednosti zabilježenih u ovom istraživanju.



Slika 5. Vrijednost ΔE^* parametra minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja

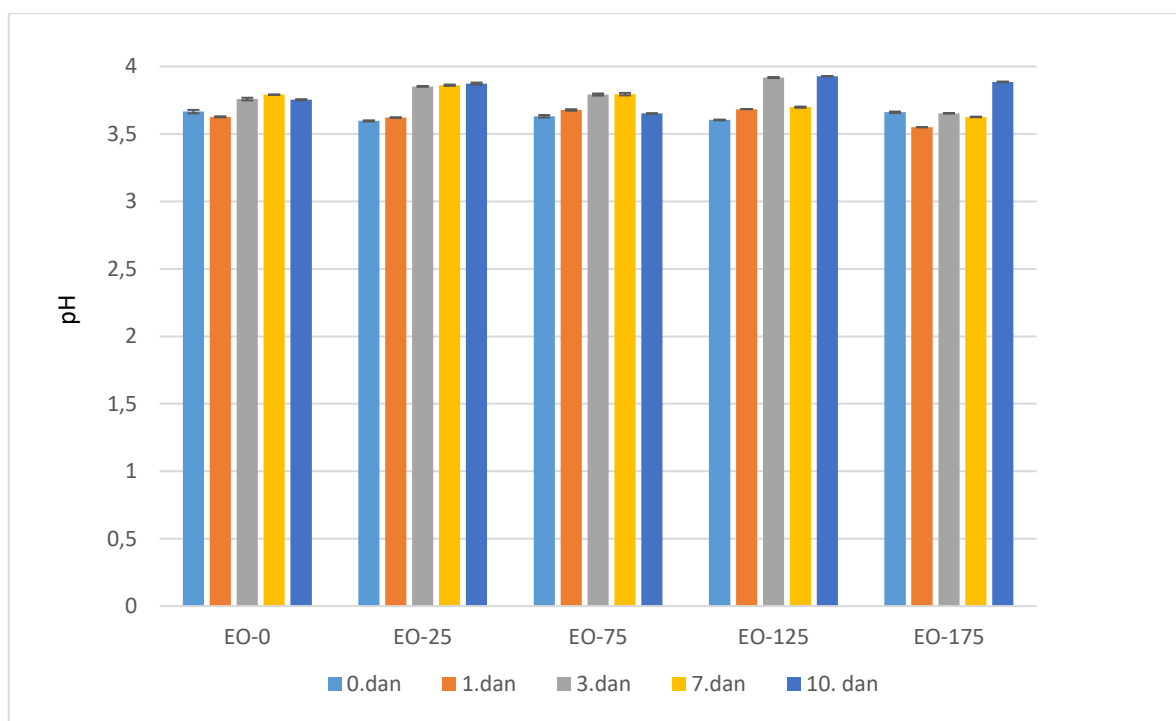
Radi boljeg prikaza razlike u obojenosti između uzoraka, izračunate su vrijednosti ΔE^* te su prikazane na slici 5, pri čemu je uzorak EO-0 0. dana skladištenja korišten kao referentni uzorak radi usporedbe.

Najveća promjena boje uočena je za kontrolni uzorak 10. dana skladištenja te iznosi 9,52. Općenito gledano, promjene nisu konzistentne te variraju ovisno o korištenoj koncentraciji eteričnog ulja mirte. Iako skladištenjem dolazi do primjetne promjene boje, svi tretirani uzorci pokazali su trend smanjenja vrijednosti parametra ΔE^* skladištenjem te znatno manju promjenu boje 10. dana skladištenja u odnosu na kontrolni uzorak. Najmanja promjena boje uočena je za uzorak EO-125 7. dana skladištenja te iznosi 0,59. Sukladno tome, može se zaključiti kako eterično ulje mirte pogodno utječe na smanjenje promjena u boji. Prosječne vrijednosti parametra ΔE^* za sve korištene koncentracije tijekom skladištenja su vrlo slične te za uzorke EO-75, EO-125 i EO-175 iznose približno 4, dok je vrijednost za uzorak EO-25 nešto viša i iznosi 4,77.

U istraživanju Passafiume i sur. (2022) cilj je bio odrediti učinke ulja nima na svježe narezani

mango skladišten tijekom 9 dana. Razlike uzorka tretiranog kombinacijom polisaharida s uljem nima u odnosu na kontrolni uzorak bile su vidljive već od 5. dana. Usporedbom početne boje kockica manga sa svakim danom analize uočeno je kako tretirani uzorak pokazuje puno manja odstupanja, dok je kontrolni uzorak pokazao znatnu promjenu boje već drugog dana skladištenja.

4.3 Rezultati mjerenja pH i topljive suhe tvari



Slika 6. Rezultati pH vrijednosti minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

Glavna kiselina prisutna u jabukama je jabučna kiselina i ona ima važnu ulogu u održavanju pH vrijednosti MPJ koja u ovom radu iznosi između 3,5 i 4.

Kiseline su odgovorne za kiselkasti okus voća i imaju svojstvo usporavanja djelovanja bakterija, što sprječava kvarenje. Tijekom sazrijevanja plodova, dolazi do akumulacije šećera i razgradnje ukupnih kiselina, što rezultira poboljšanjem okusa voća. Pravilan omjer šećera i kiselina ključan je za postizanje uravnoteženog i osvježavajućeg okusa voća, a to je važan kriterij prilikom procjene i konzumacije plodova (Skendrović-Babojelić, 2014).

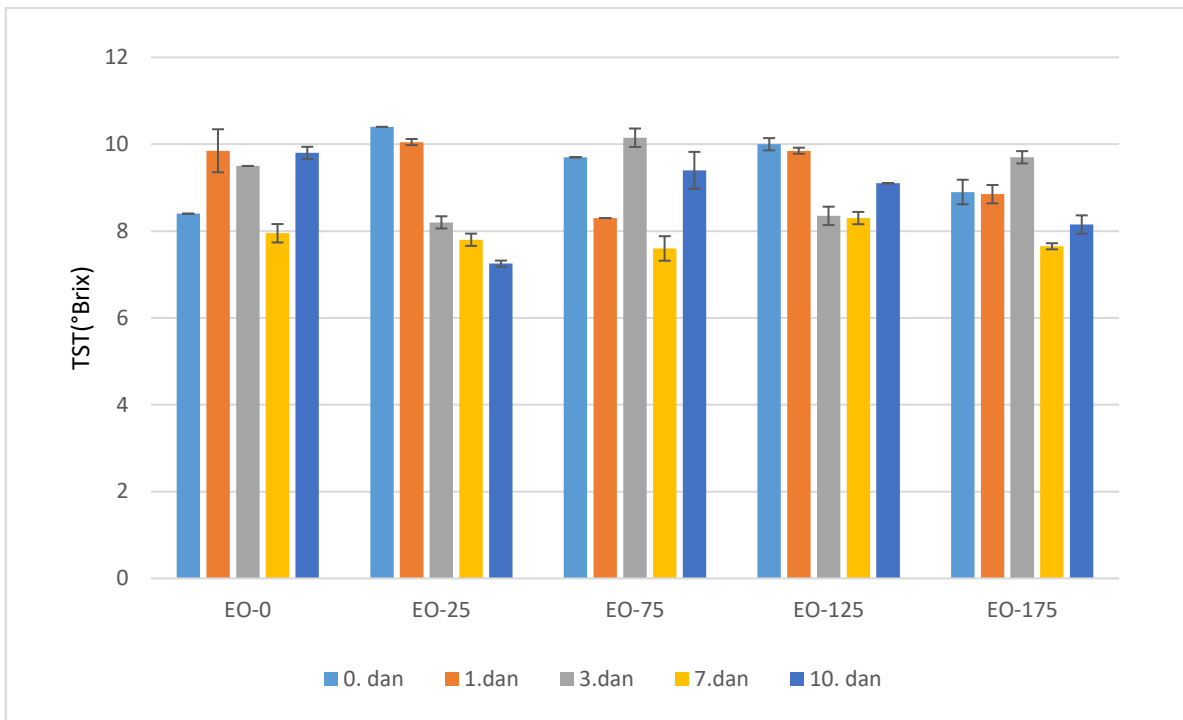
Oscilacija pH vrijednosti tijekom 10 dana skladištenja minimalno procesirane jabuke prikazana

je na slici 5. Najveća je zabilježena pH vrijednost uočena za uzorak EO-125 i iznosi 3,93 tijekom 10. dana skladištenja, dok je najmanja zabilježena vrijednost kod uzorka EO-175 1. dana skladištenja te iznosi 3,55. Uopćeno gledano, pH raste tijekom skladištenja, a to se može pripisati činjenici da se organske kiseline koriste kao respiratorni supstrati (Etienne i sur., 2013). Najveće oscilacije u vrijednosti pH zabilježene su kod uzorka tretiranog koncentracijom 175 mg/L i kreću se u rasponu od 3,55 do 3,80, a u sličnoj su korelaciji s uzorkom tretiranim koncentracijom 125 mg/L gdje se raspon pH kreće od 3,60 do 3,93 i gdje su oscilacije također veće. Najveća je stabilnost uočena za uzorak EO-75 gdje je pH varirao od 3,63 do 3,80 i 10. dana se smanjio.

U istraživanju Xylia i sur. (2021) ustanovljeno je da je na kraju skladištenja, 6. dan, primjenom eteričnog ulja origana i klora došlo do povećanja ukupne kiselosti, odnosno smanjenja pH vrijednosti minimalno procesirane salate u usporedbi s kontrolom 6. dana.

Sharafi i sur. (2011) istraživali su utjecaj različitih koncentracija eteričnih ulja lavande i timijana na MPJ. Na temelju dobivenih rezultata zaključili su kako eterično ulje lavande nije značajnije utjecalo na pH, dok je tretman eteričnim uljem timijana koncentracije 200 ppb bitnije smanjio pH jabuka, odnosno došlo je do povećanja kiselosti u odnosu na ostale tretirane i kontrolne uzorke.

S druge strane, u istraživanju Mohammadi i sur. (2021) koji su minimalno procesirane jagode tretirali eteričnim uljem bosiljka, rezultati su pokazali kako je tijekom skladištenja došlo do postupnog rasta pH vrijednosti što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja.



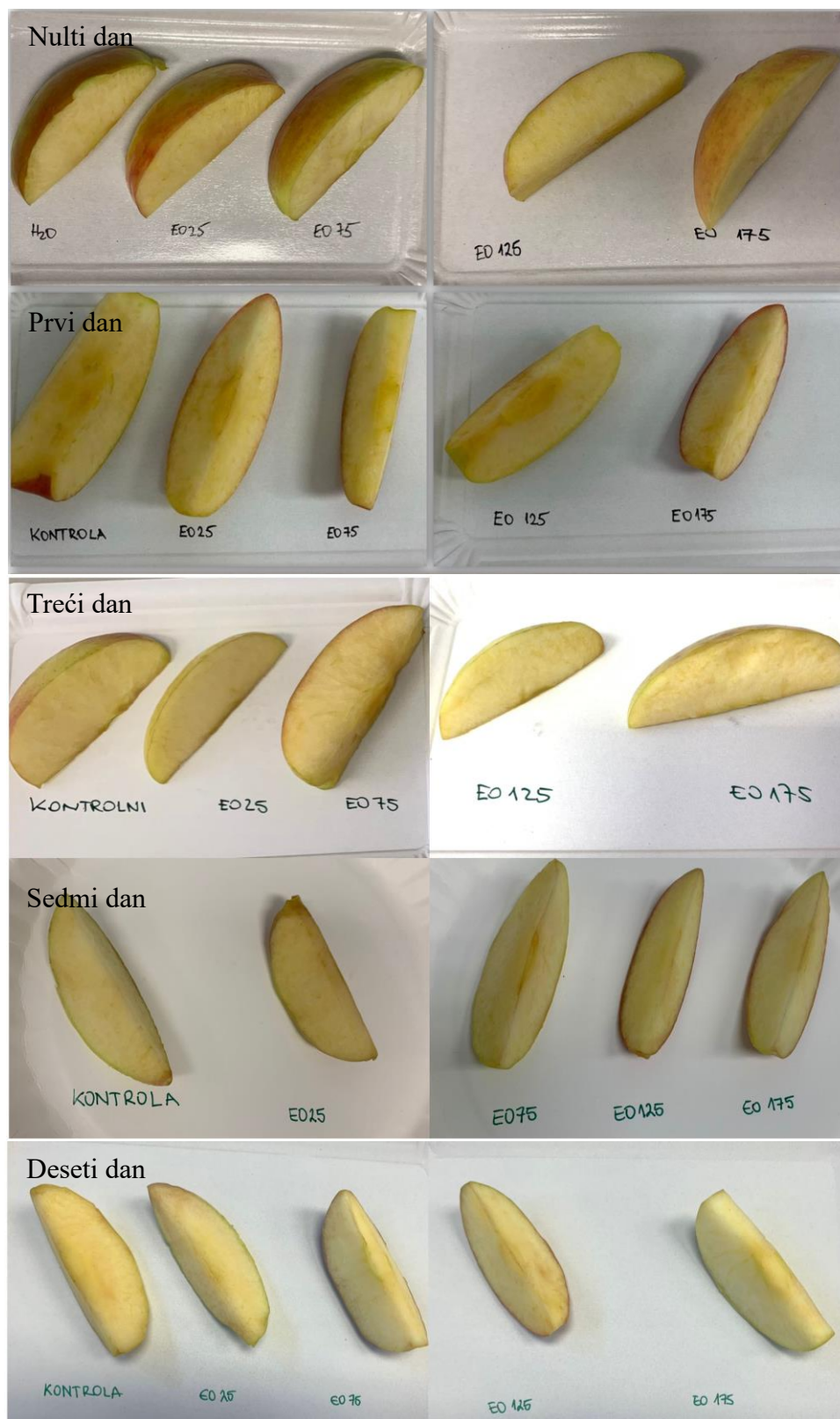
Slika 7. Vrijednosti topljive suhe tvari minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija

Vrijednosti topljive suhe tvari poprilično su se mijenjale tijekom skladištenja što je vidljivo na slici 7. Svi su tretirani uzorci 0. dana imali veću vrijednost TST u odnosu na kontrolni uzorak, ali unatoč tome tretirani uzorci skladištenjem slijede trend snižavanja TST vrijednosti u odnosu na 0. dan. Kod svih uzoraka došlo je do pada vrijednosti TST tijekom 7. dana skladištenja, nakon čega je zabilježen ponovni porast, osim kod uzorka EO-25 gdje je i 10. dana TST vrijednost nastavila padati. Najveća stabilnost, odnosno najmanje varijacije u vrijednostima TST tijekom skladištenja pokazao je uzorak EO-125, a najveće vrijednosti u prosjeku pokazao je uzorak EO-75. Općenito su se vrijednosti TST u ovom istraživanju kretale od 7,25 do 10,4 °Brix, što je nešto niže od vrijednosti TST zabilježenih u istraživanju Levaj i sur. (2020) koje su se kretale od 12,1-14,1 °Brix.

Rezultati u istraživanju Passafiume i sur. (2022) utjecaja jestivog premaza s uljem nima na minimalno procesirani mango pokazuju da se TST vrijednost povećavala s vremenom skladištenja, kako za tretirane tako i za netretirane uzorke manga.

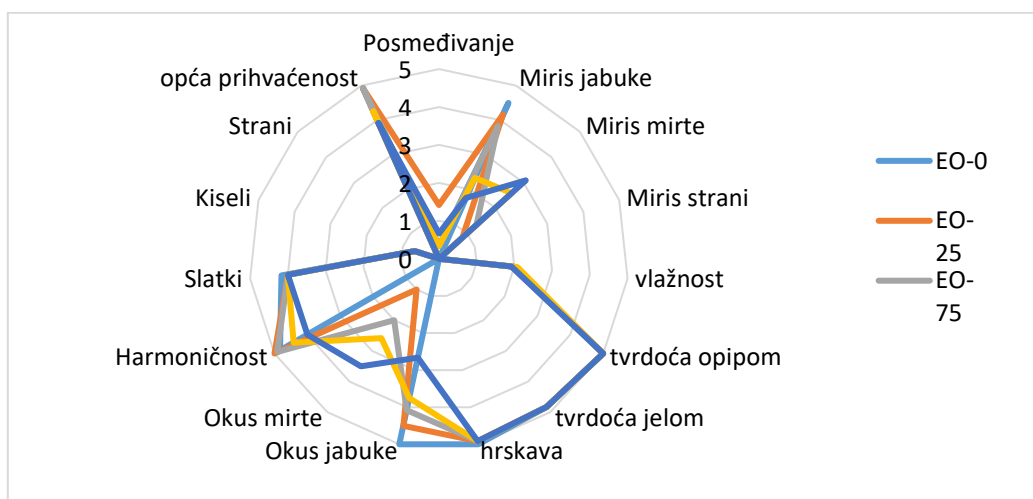
U istraživanju koje su proveli Ru i suradnici (2022), korištenjem nanoemulzije eteričnog ulja lovora također je primijećen porast udjela TST nakon skladištenja minimalno procesirane dinje.

4.4 Senzorska analiza



Slika 8. Kriške minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte tijekom deset dana skladištenja (vlastita fotografija)

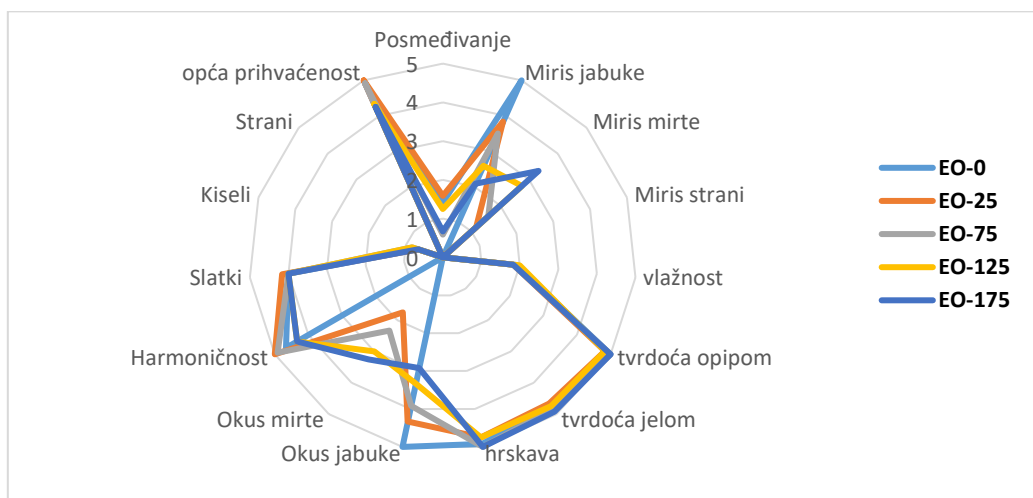
Na slici 8 primjetno je da skladištenjem minimalno procesirane jabuke nije došlo do značajnije promjene u boji. Svi uzorci tretirani eteričnim uljem mirte pokazali su blagi pad stupnja posmeđivanja u odnosu na kontrolni uzorak, s izuzetkom EO-25 uzorka koji je pokazao najlošije rezultate, odnosno najveće posmeđivanje tijekom skladištenja. Najveće zabilježene ocjene za boju (posmeđivanje) dodijeljene su upravo uzorku EO-25 i iznose 4,2 7. dana skladištenja i 3,5 10. dana skladištenja. Nasuprot tome, EO-75 uzorak pokazao se kao najstabilniji, s najmanjim razlikama u ocjenama tijekom deset dana skladištenja i ujedno najmanjom ocjenom 10. dana skladištenja koja iznosi 1,3. Naime, to je i očekivano budući da se uzorak EO-75 pokazao kao najstabilniji i tijekom mjerenja parametra L*. Uzorak EO-125 ocijenjen je s 2,5 te EO-175 ocjenom 1,7, dok je kontrolni uzorak dobio ocjenu 2,9 nakon 10 dana. Sukladno tome, može se zaključiti kako je eterično ulje mirte pogodno utjecalo na kontrolu posmeđivanja, s izuzetkom uzorka EO-25.



Slika 9. Rezultati senzorske analize nultog dana skladištenja minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte

Prema slici 9, gdje su prikazani rezultati senzorske analize MPJ 0. dana skladištenja, odnosno onoga dana kad su tretirane eteričnim uljem mirte, svi parametri su visoko ocijenjeni. Uzorcima EO-0, EO-25 i EO-75 opća prihvaćenost je toga dana bila najveća. Svi su uzorci bili tvrdi, hrskavi i slatkog okusa te je harmoničnost kao i okus svih uzoraka vrlo visoko ocijenjena. Miris mirte rastao je proporcionalno rastu primijenjene koncentracije eteričnog ulja mirte pa je stoga najveća ocjena za miris mirte data uzorku EO-175, ali to nije utjecalo na pogoršanje okusa i harmoničnosti. Posmeđivanje nije izraženo, osim kod uzorka EO-25 kod kojeg je već nultog

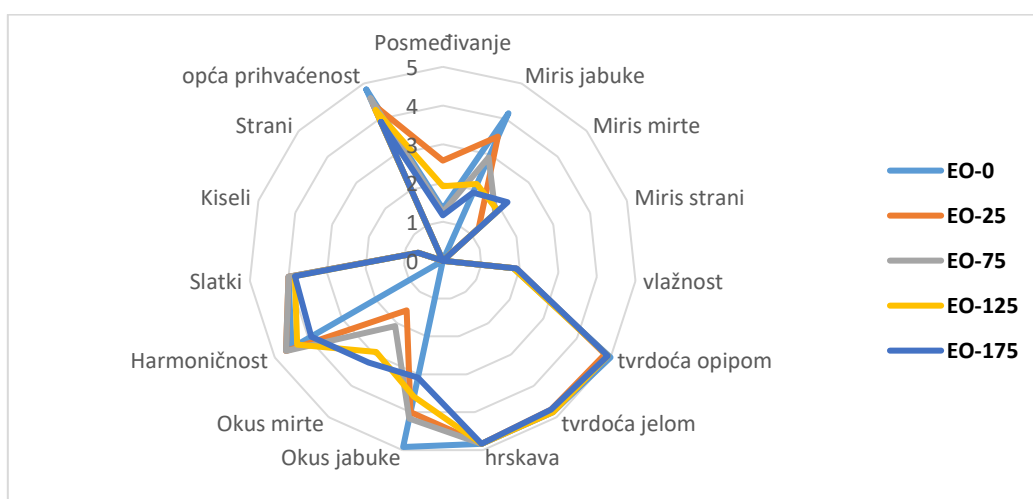
dana zapaženo, ali u manjoj mjeri.



Slika 10. Rezultati senzorske analize prvog dana skladištenja minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte

Rezultati senzorske analize 1. dana skladištenja MPJ pokazali su da nema velikog odstupanja od rezultata 0. dana skladištenja. Uzorci su i dalje tvrdi i hrskavi. Nema stranih mirisa, a okus mirte iako blago izražen, harmonično se slaže s okusom jabuke.

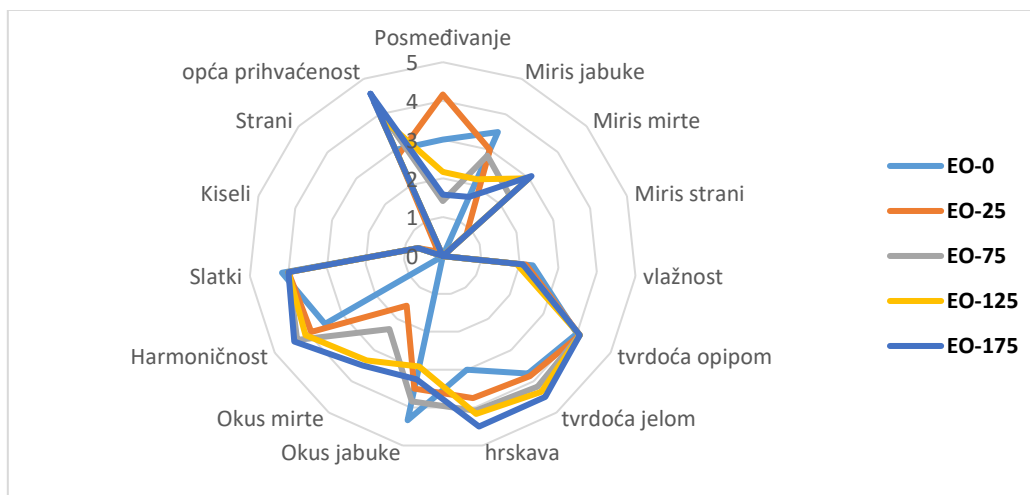
Primijećeno je blago posmeđivanje kod svih uzoraka, a u skladu s rezultatima za 0. dan skladištenja, i 1. dana je najveće posmeđivanje zabilježeno za uzorak EO-25.



Slika 11. Rezultati senzorske analize trećeg dana skladištenja minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte

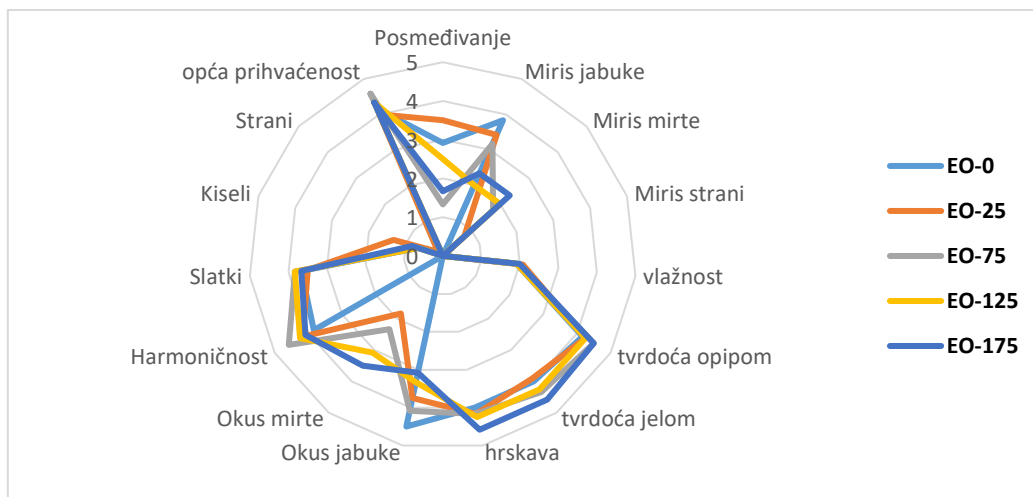
Slika 11 prikazuje rezultate senzorske analize nakon 3. dana skladištenja uzoraka. Ocjenjivani parametri nisu se znatno promijenili u odnosu na 1. dan skladištenja. Jabuka je i dalje hrskava,

dobre tvrdoće i niske vlažnosti. Nema prisutnosti stranih mirisa, a miris i okus jabuke i mirte su i dalje u skladu, dobre harmoničnosti. Opća prihvaćenost je ipak manja u odnosu na 1. dan skladištenja, a na to je najviše utjecao porast posmeđivanja kod svih uzoraka, s tim da je najveći skok ponovno zabilježen kod uzorka EO-25.



Slika 12. Rezultati senzorske analize sedmog dana skladištenja minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte

7. dana skladištenja prisutne su uočljivije razlike između uzoraka, što je i vidljivo na slici 12. Posmeđivanje gotovo da i nije prisutno kod skupine EO-75 i EO-175, dok je skupina EO-25 ocjenjena s čak 4,2. Miris jabuke je kao i miris mirte slabo do srednje izražen, s tim da se miris mirte pojačavao s porastom koncentracije eteričnog ulja mirte. Nisu se pojavili nepoznati mirisi i okusi. Vlažnost uzoraka je ostala nisko ocjenjena, a tvrdoća opipom i jelom i dalje izražena. Primjetan porast okusa mirte uočen je za uzorke EO-125 i EO-175. Opća prihvaćenost je ipak nešto manja 7. dana skladištenja u odnosu na prethodne dane te varira između 2,83 i 4,58.



Slika 13. Rezultati senzorske analize desetog dana skladištenja minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem mirte

Rezultati senzorske analize za 10. dan skladištenja MPJ prikazani su na slici 13. Posmeđivanje je vrlo slično ocjenjeno onome 7. dana skladištenja, miris i okus mirte zadržavaju trend povećanja s povećanjem koncentracije eteričnog ulja mirte. Najbolje ocjenjena je opća prihvaćenost za uzorke EO-75 i EO-175. Strani mirisi i okusi i dalje nisu izraženi. Vlažnost opipom i tvrdoćom se postupno smanjivala tijekom skladištenja, ali je i 10. dana još uvijek izražena i postojana. Hrskavost MPJ također nije bitnije narušena. Harmoničnost je visoko ocjenjena, što znači da su okus jabuke i mirte kompatibilni i dobro se nadopunjuju.

Uspoređujući ocjene posmeđivanja za kontrolni uzorak s ocjenama uzoraka tretiranih eteričnim uljem mirte, može se zaključiti kako duljim skladištenjem eterično ulje ima blago pozitivan utjecaj na očuvanje boje, odnosno sprječavanje stupnja posmeđivanja. Uspoređujući posmeđivanje s kontrolnom skupinom, boja tretiranih uzoraka uglavnom je bolje ocijenjena, odnosno posmeđivanje je manje na tretiranim uzorcima, osim uzoraka EO-25 koji su se pokazali najlošijima. Iako je skladištenjem došlo do posmeđivanja, uzorci tretirani koncentracijama od 75 mg/L i 175 mg/L pokazuju manji trend povećanja istog u odnosu na kontrolni i ostale tretirane uzorke. Sveukupno gledano, tretman eteričnim uljem mirte pozitivno je utjecao na sve ispitivane parametre te iako se porastom korištene koncentracije eteričnog ulja mirte pojačavao i miris mirte, on nije narušio harmoničnost uzoraka. Istraživanjem Passafiume i sur. (2022) uočeno je kako eterično ulje nima povoljno utječe na održavanje teksture i sočnosti minimalno procesiranog manga te da je uspješno smanjio posmeđivanje i gubitak izvornog okusa i mirisa manga skladištenjem u trajanju od 9 dana.

5 ZAKLJUČCI

1. U svim uzorcima je tijekom skladištenja došlo do smanjenja ukupnog broja AMB. Budući da ne postoji značajnija razlika u rezultatima ukupnog broja AMB između kontrolnog i tretiranih uzoraka tijekom skladištenja, ne može se odrediti jasan utjecaj eteričnog ulja mirte niti koncentracije istog na mikrobiološku sliku MPJ.

Najveća zabilježena vrijednost u tretiranim uzorcima iznosi 2,95 log CFU/g, a najniža 2 log CFU/g. Sve zabilježene vrijednosti AMB nalaze se ispod granica prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu, odnosno ispod 5 log CFU/g.

2. Tretiranje MPJ eteričnim uljem mirte nema jasan utjecaj na promjenu boje budući da nema značajnije razlike u vrijednostima između kontrolnog i tretiranih uzoraka. No ipak, duljim se skladištenjem koncentracija od 175 mg/L pokazala kao najefikasnija u vidu očuvanja boje, odnosno povećanje koncentracije eteričnog ulja mirte je bolje utjecalo na sprječavanje posmeđivanja.

3. Tretiranje MPJ eteričnim uljem mirte nema jasan utjecaj na promjenu pH. Skladištenjem je došlo do porasta pH u svim uzorcima. Koncentracija od 75 mg/L eteričnog ulja mirte utjecala je na najmanje promjene pH tijekom skladištenja.

4. Tretman eteričnim uljem mirte doveo je do povećanja vrijednosti TST minimalno procesirane jabuke 0. dana skladištenja u odnosu na kontrolni uzorak, odnosno svi su uzorci imali više vrijednosti od kontrolnog uzorka. Tijekom skladištenja do 7. dana primjećuje se trend smanjenja vrijednosti TST, a zatim ponovnog porasta 10. dana skladištenja.

5. Eterično ulje mirte pozitivno je utjecalo na sve ocjenjivane senzorske parametre. Primjenom veće koncentracije eteričnog ulja mirte u minimalno procesiranoj jabuci došlo je do postupnog jačanja mirisa i okusa mirte, no unatoč tome, harmoničnost je u svim tretiranim uzorcima visoko ocjenjena. Eterično ulje mirte pozitivno je utjecalo i na teksturu, odnosno održalo je prihvatljivu tvrdoću i vlažnost uzoraka čak i 10. dana skladištenja. Opća prihvaćenost je tijekom svih dana skladištenja najlošija za koncentraciju 25 mg/L, a kao najbolje su se pokazale koncentracije 75 mg/L i 175 mg/L. Navedeni uzorci su se istaknuli kao najkvalitetniji i po drugim senzorskim karakteristikama, s posebnim naglaskom na EO-75 koji se istakao po

najbolje ocjenjenoj boji i sposobnosti suzbijanja posmeđivanja 10 dana skladištenja.

6. Budući da je tretman eteričnim uljem mirte pozitivno utjecao na održivost minimalno procesirane jabuke, ovakva alternativna metoda mogla bi se primjenjivati u svrhu dobivanja proizvoda novog, harmoničnog okusa bez primjene kemijskih sredstava. Prema dobivenim rezultatima može se preporučiti koncentracija 75 mg/L koja se pokazala kao izuzetno dobrom i najbolje ocjenjenom.

6 LITERATURA

Aydın C, Özcan MM (2007) Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of food engineering* **79**, 453-458. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.008>

Andrade EHA, Alves CN, Guimarães, EF. Carreira LMM, Maia JGS (2011) Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* LC Rich. *Biochem Syst Ecol* **39**, 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.05.021>

Anonymous, https://specialtyproduce.com/produce/Cripps_Pink_Apples_6740.php

Brunović B (2022) Stabilnost minimalno procesirane jabuke tretirane eteričnim uljem lovora (*Laurus nobilis*) (Završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Cantwell MI, Suslow T (2002) Postharvest handling systems: Fresh-cut fruits and vegetables. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 445-464.

Cerjak M, Vrhovec R, Vojvodić M, Mesić Ž (2011) Analiza hrvatskog tržišta jabuka. *Proceedings* **311**, 314.

De Castro E, Barrett DM, Jobling J, Mitcham EJ (2008) Biochemical factors associated with a CO₂-induced flesh browning disorder of Pink Lady apples. *Postharvest Biology and Technology* **48**, 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.027>

De Peredo AVG, Vázquez-Espinosa M, Espada-Bellido E, Ferreiro-González M, Amores-Arrocha A, Palma M, Barbero GF, Jiménez-Cantizano A (2019) Alternative ultrasound-assisted method for the extraction of the bioactive compounds present in myrtle (*Myrtus communis* L.). *Molecules* **24**, 882. <https://doi.org/10.3390/molecules24050882>

Etienne A, Génard M, Lobit P, Mbéguié-A-Mbéguié D, Bugaud C (2013) What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *Journal of experimental*

botany, **64**, 1451-1469. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert035>

Gutierrez J, Bourke P, Lonchamp J, Barry-Ryan C (2009) Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **10**, 195-202. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.10.005>

HRN EN ISO 4833-1:2013 Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama

Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL (2012) Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology* **3**, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>

Kivrak Ş (2018) Myrtus communis L.: Characterisation of Essential Oil of Leaves and Fatty Acids of Seeds Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MSD). *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* **22**, 488-492. <https://dergipark.org.tr/en/pub/sdufenbed/issue/38975/456331>

Lata B, Trampczynska A, Paczesna J (2009) Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae* **121**, 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.01.038>

Levaj B, Matijević B, Zorić Z, Dragović-Uzelac V, Bursać Kovačević D, Lončarić S, Pedisić S, Elez Garofulić I, Mrvčić J, Čošić Z, Repajić M (2020) The perspectives of fresh-cut fruits and vegetables on the Zagreb market. *Glasnik Zaštite Bilja* **43**, 76-85. <https://doi.org/10.31727/gzb.43.4.10>

Levaj B, Repajić M, Galić K, Dite D (2018) Proizvodnja i čimbenici kvalitete minimalno procesiranog krumpira (*Solanum tuberosum*). *Glasnik zaštite bilja* **41**, 23-31. <https://doi.org/10.31727/gzb.41.6.3>

Lučić D (2014) Kako smo od jabuke stvorili superiorno voće?

<https://www.agroklub.com/vocarstvo/kako-smo-od-jabuke-stvorili-superiorno-voce/15068/>.

Pristupljeno 18. kolovoza 2023.

Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL, Del Bino S (2020) Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. *Journal of Investigative Dermatology* **140**, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>

Martinez-Romero D, Castillo S, Valverde JM, Guillen F, Valero D, Serrano M (2005) The Use of Natural Aromatic Essential Oils Helps to Maintain Post-Harvest Quality of Crimson Table Grapes. *Acta horticulturae* **682**, 1723. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.230>

McGuire RG (1992) Reporting of objective color measurements. *HortScience* **27**, 1254-1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>

Miguel MG (2010) Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules* **15**, 9252-9287. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>

Miljković I (2022) Istraživanje utjecaja klimatskih prilika na kemijski sastav i kvalitetu plodova sorti jabuka u Hrvatskoj. *Pomologia Croatica* **26**, 21-43.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja Republike Hrvatske (2011) Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 3. izmijenjeno izdanje. https://food.ec.europa.eu/safety/biological-safety/food-hygiene/microbiological-criteria_en
Pristupljeno 19. kolovoza 2023.

Mohammadi L, Ramezani A, Tanaka F (2021) Impact of Aloe vera gel coating enriched with basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on postharvest quality of strawberry fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization* **15**, 353-362. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00634-7>

Nassar M, Aboutabl E, Ahmed R, El-Khrisy E, Ibrahim K, Sleem A (2011) Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. *Pharmacognosy Research* **2**, 325. <https://doi.org/10.4103%2F0974-8490.75449>

Passafiume R, Tinebra I, Gaglio R, Settanni L (2022) Fresh-Cut Mangoes: How to Increase Shelf Life by Using Neem Oil Edible Coating. *Coatings* **12**, 664. <https://doi.org/10.3390/coatings12050664>

Pizato S, Vega-Herrera SS, Chevalier RC, Pinedo RA, Cortez-Vega WR (2022) Impact of chitosan coatings enriched with clove essential oil on quality of minimally processed strawberries. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **65**. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210278>

Putnik P, Bursać Kovačević D, Herceg K, Levaj B (2016) Influence of antibrowning solutions, air exposure, and ultrasound on color changes in fresh-cut apples during storage. *J Food Process Preserv* **41**, 1-12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13288>

Ru Q, Hu Q, Dai C, Zhang X, Wang Y (2022) Formulation of *Laurus nobilis* essential oil nanoemulsion system and its application in fresh-cut muskmelons. *Coatings* **12**, 159. <https://doi.org/10.3390/coatings12020159>

Santos MIS, Marques C, Mota J, Pedroso L, Lima A (2022) Applications of essential oils as antibacterial agents in minimally processed fruits and vegetables—A review. *Microorganisms* **10**, 760. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040760>

Sharafi Y, Rabiei V, Shirzadeh E, Rabbiangourani H (2011) Effect of thyme and lavender essential oils on the qualitative and quantitative traits and storage life of apple ‘Jonagold’ cultivar. *Journal of Medicinal Plants Research* **5**.

Skenderović-Babojelić M, Korent P, Šindrak Z, Jemrić T (2014) Pomološka svojstva i kakvoća ploda tradicionalnih sorata jabuka. *Glasnik zaštite bilja* **37**, 20-27. <https://hrcak.srce.hr/162713>

Štefanac D (2018) Kemijski sastav i biološka aktivnost eteričnih ulja (diplomski rad), Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, Split.

Tuberoso CI, Barra A, Angioni A, Sarritzu E, Pirisi FM (2006) Chemical composition of

volatiles in Sardinian myrtle (*Myrtus communis* L.) alcoholic extracts and essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry* **54**, 1420-1426. <https://doi.org/10.1021/jf052425g>

Vahčić N, Hruškar M, Marković K (2000) Metoda kvantitativne deskriptivne analize u senzorskoj procjeni jogurta. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka* **50**, 279-296. <https://hrcak.srce.hr/93330>

Xylia P, Chrysargyris A, Tzortzakis N (2021) The combined and single effect of marjoram essential oil, ascorbic acid, and chitosan on fresh-cut lettuce preservation. *Foods* **10**, 575. <https://doi.org/10.3390/foods10030575>

Zanetti S, Cannas S, Molicotti P, Bua A, Cubeddu M, Porcedda S, Marongiu B, Sechi LA (2010) Evaluation of the Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Myrtus communis* L. against Clinical Strains of *Mycobacterium* spp. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/931530>

Izjava o izvornosti

Ja Lorena Berišić izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis